

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN ALAMANDA (*Allamanda cathartica* L.) SEBAGAI ANTIJAMUR TERHADAP *Candida albicans* DAN *Pityrosporum ovale* SECARA IN VITRO

ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT FROM ALAMANDA LEAF (*Allamanda cathartica* L.) AS ANTIFUNGAL AGAINST *Candida albicans* AND *Pityrosporum ovale* IN VITRO

Elisabeth Arundhina¹, C. J. Soegihardjo², B. Boy Rahardjo Sidharta³

^{1,3}Fakultas Teknobiologi Atma Jaya Yogyakarta, Jl. Babarsari No. 44 Yogyakarta

²Fakultas Farmasi Sanata Dharma, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta
aurel.arun@gmail.com

Abstrak

Daun *Allamanda cathartica* L. mengandung senyawa fitokimia, antara lain alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, dan tanin. Senyawa antimikrobia dalam daun *Allamanda cathartica* L. diekstrak dengan metode maserasi dan pelarut etanol 99,8% (pro-analisis). Hasil ekstrak dipekatkan hingga menjadi pasta lalu dibuat konsentrasi 100, 50, 25, dan 12,5% (^b/_v). Ekstrak diujikan pada mikrobial uji menggunakan metode difusi agar (sumuran) dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Pembanding ekstrak yang digunakan adalah ketokonazol sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun *Allamanda cathartica* L. pada semua konsentrasi efektif terhadap *Candida albicans* maupun *Pityrosporum ovale*. Ekstrak etanol daun *Allamanda cathartica* L. menunjukkan hasil terbaik pada *Candida albicans* dibanding *Pityrosporum ovale*. Hasil zona hambat dilanjutkan dengan pengujian untuk mengetahui KHM menggunakan metode dilusi tabung dan KBM menggunakan metode perhitungan jumlah koloni. Konsentrasi 2, 1,75, 1,50, 1,25, dan 1% (^b/_v) untuk *Candida albicans*, sedangkan konsentrasi 10, 9, 8, 7, 6, dan 5% (^b/_v) untuk *Pityrosporum ovale*. KHM untuk *Candida albicans* adalah 1,5% (^b/_v), sedangkan untuk *Pityrosporum ovale* adalah 9% (^b/_v). KBM untuk *Candida albicans* adalah 1,75 (^b/_v), sedangkan untuk *Pityrosporum ovale* adalah 10% (^b/_v). Ekstrak etanol daun *Allamanda cathartica* L. kemudian dibuat krim (^m/_a) untuk tiap mikrobial uji dengan konsentrasi berdasarkan hasil KBM.

Kata kunci : ekstrak etanol, daun, alamanda, antijamur, *Candida albicans*, *Pityrosporum ovale*

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki kelembaban tinggi sehingga memungkinkan untuk tumbuhnya berbagai tanaman dan mikroorganisme dengan baik. Salah satu mikroorganisme yang dapat tumbuh dengan baik di Indonesia adalah jamur (Arifin, 2006). Menurut Hezmela (2006), penyakit kulit yang disebabkan oleh beberapa jenis jamur merupakan salah satu masalah negara-negara di daerah tropis seperti Indonesia. Kondisi kulit yang mudah berkeringat dan lembab, kebersihan diri yang tidak terjaga dan kurangnya pengetahuan tentang kesehatan merupakan faktor yang memungkinkan pertumbuhan jamur penyebab penyakit kulit. Anissa (2012), menyebutkan bahwa infeksi

jamur dibagi menjadi tiga klasifikasi utama, yaitu infeksi superfisial, subkutan, dan sistemik. Infeksi jamur superfisial yang menyerang kulit dan selaput mukosa antara lain *pityriasis versicolor* (panu), *pityriasis capitis* (ketombe), *dermatophytosis*, dan *superficial candidosis* (kandidiasis).

Banyaknya obat antijamur yang tersedia bebas di pasaran bukan berarti menyelesaikan masalah karena timbulnya efek samping dari penggunaan obat-obatan sintetis tersebut. Menurut Tripathi (1999), dalam pengobatan spesies *Candida sp.*, nystatin biasanya tidak bersifat toksik, namun terkadang dapat menimbulkan rasa gatal, mual, muntah, dan diare jika diberikan dalam dosis tinggi. Menurut Stecher (1980), *Zinc pyrithione* (ZPT) untuk *P. ovale* juga mempunyai efek samping seperti dermatitis yang terjadi pada kulit kepala dan kerusakan rambut (rambut rontok, berubah warna, patah-patah).

Selain adanya efek samping dari obat-obatan sintetis, gaya hidup *back to nature* yang mulai marak dikembangkan masyarakat di Indonesia kini mendorong peneliti untuk mencari alternatif. Alternatif tersebut berupa senyawa aktif dari tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai antijamur dan tidak menimbulkan efek samping. Tumbuhan yang dipilih karena diprediksi memiliki senyawa aktif sebagai antijamur, yaitu *Allamanda cathartica* L. (alamanda).

Bahan dan Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknobia-Industri, Teknobia-Pangan, Biologi Molekuler, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, dan Laboratorium Farmakognosi Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta pada bulan Februari sampai Agustus 2014.

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), blender, oven, timbangan analitik, *hair dryer*, *rotary evaporator*, *waterbath*, lemari pendingin, *microwave*, *autoclave*, *vortex*, inkubator, inkubator *shaker*, spektrofotometer, kompor listrik, kipas angin, erlenmeyer, gelas beker, corong kaca, botol kaca, botol timbang, botol flakon, tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, gelas ukur, labu ukur, gelas pengaduk, petri, gelas timbang, lampu bunsen, trigalski, ose bulat, termometer, kompor gas, timbangan digital, keranjang plastik, baskom plastik, loyang, spatel, cawan porselen, rak tabung reaksi, penjepit kayu, gelas ukur plastik, propipet, mikropipet, tip, plat tetes porselen, korek api

gas, botol plastik, kuvet, mortir, stemper, perforator, wadah krim, *hand counter*, *glove* tahan panas, *timer*, nampan plastik, kertas payung, aluminium foil, kapas, kertas saring, *tissue*, karet gelang, *cling wrap*, kalkulator, penggaris, kamera, dan spon.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun alamanda (*Allamanda cathartica* L.), serbuk daun alamanda, ekstrak etanol daun alamanda, jamur *Candida albicans*, jamur *Pityrosporum ovale*, air keran, etanol pro-analisis, HCl 0,1 N, reagen Mayer, reagen Wagner, reagen Dragendorff, *aquadest*, Mg serbuk, alkohol klorhidrat (HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama), amil alkohol, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat (H₂SO₄ pekat), FeCl₃ 1%, *Nutrient Broth* (NB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *olive oil*, DMSO (Dimetil Sulfoksida), tablet ketokonazol 200 mg, standar *McFarland* 0,5, NaCl 0,9% steril, alkohol 70%, krim ketokonazol 2%, natrium tetraborat, asam stearat, gliserin, dan TEA (Trietanolamin).

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan perlakuan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun *Allamanda cathartica* yang diujikan pada dua spesies jamur yang berbeda. Spesies jamur yang digunakan dalam penelitian, yaitu *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. Kontrol positif menggunakan ketokonazol 0,1%, sedangkan kontrol negatif menggunakan pelarut DMSO (Dimetil Sulfoksida). Perulangan setiap perlakuan dilakukan sebanyak lima kali.

Hasil dan Pembahasan

A. Preparasi Daun Alamanda

Tanaman alamanda diperoleh dari satu pohon yang terdapat di SMA Stella Duce 2 Yogyakarta. Identifikasi dilakukan menggunakan buku panduan Flora (van Steenis dkk., 1997) dan *Plant Resources of South-East Asia* No 12 (2) : *Medicinal and poisonous plants* 2 (van Valkenburg dan Bunyaphatsara, 2002). Berdasarkan hasil identifikasi, tanaman yang diperoleh merupakan benar *Allamanda cathartica* L.

Proses preparasi selanjutnya, yaitu dengan memetik daun alamanda segar kemudian mencucinya dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Daun yang masih segar, bersih, dan kering angin setelah dicuci, kemudian dimasukkan ke dalam oven. Menurut

Krisyanella dkk. (2012), proses pengeringan daun bertujuan untuk menghentikan reaksi enzimatik, enzim menjadi tidak aktif sehingga tidak terjadi penguraian bahan kimia, sedangkan menurut Rahayu (2012), untuk mengurangi kadar air di dalam daun hingga relatif rendah supaya berkurangnya aktivitas mikrobial sehingga tidak akan merusak komponen kimia dalam daun dan dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Proses pengeringan daun alamanda menggunakan oven dengan suhu 40°C. Menurut Rahayu (2012), suhu 40°C dipilih karena suhu ini dianggap relatif aman agar tidak terjadi kerusakan pada senyawa metabolit sekunder dalam daun.

Berdasarkan hasil pengeringan, terjadi perubahan warna dan tekstur pada daun alamanda. Setelah pengeringan, daun alamanda yang tadinya berwarna hijau muda segar menjadi hijau kecoklatan dan memiliki tekstur yang kering. Daun alamanda yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Menurut Octavia (2009), penghalusan daun dilakukan untuk mempermudah proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran daun maka luas permukaan daun tersebut menjadi semakin besar dan proses ekstraksi akan berlangsung lebih efektif.

B. Ekstraksi Daun Alamanda

Hasil maserasi dari daun alamanda yang direndam menggunakan etanol pro-analisis dengan konsentrasi 99,8%, baik saat awal perendaman, akhir perendaman, hingga tahap penyaringan, memiliki warna yang tetap, yaitu hijau tua terang. Perbandingan jumlah serbuk daun alamanda dan pelarut etanol yang digunakan adalah 1 : 10. Menurut Distantina dkk. (2007), semakin banyak pelarut yang digunakan maka rendemen yang diperoleh semakin besar. Hal ini disebabkan semakin besarnya rasio pelarut terhadap daun maka luas permukaan perpindahan massa antara padatan dengan larutan semakin besar.

Proses maserasi dilakukan selama 5 x 24 jam atau 5 hari. Proses maserasi dibatasi selama 5 hari karena menurut Ramadhan dan Phaza (2010), kenaikan rendemen yang signifikan hanya didapat pada kurun waktu tertentu. Hasil maserasi kemudian disaring. Menurut Nugroho dkk. (1999), filtrat dari proses maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Proses penguapan dimaksudkan untuk memisahkan pelarut etanol dan senyawa fitokimia yang terekstrak dari daun alamanda. Setelah pelarutnya diuapkan, akan dihasilkan ekstrak yang dapat berbentuk padatan (*solid*) atau cairan

(*liquid*). Ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi awal ini (ekstraksi dari bahan tumbuhan) disebut sebagai ekstrak kasar (*crude extract*). Berdasarkan proses ekstraksi yang dilakukan dengan perbandingan serbuk daun alamanda dan pelarut etanol 1 : 10 selama 5 hari, hasil ekstrak (rendemen) yang diperoleh adalah $\pm 20\%$ dari berat serbuk daun alamanda kering.

C. Identifikasi Senyawa Fitokimia Ekstrak

Hasil ekstraksi berupa pasta diuji terlebih dahulu kandungan senyawa fitokimianya secara kualitatif supaya senyawa target yang diinginkan, yakin sudah didapat dari proses ekstraksi yang dilakukan. Senyawa target yang diinginkan adalah senyawa fitokimia yang diduga memiliki aktivitas antijamur. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2008), senyawa fitokimia yang dapat berkhasiat sebagai antijamur, seperti alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid dan triterpenoid.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alamanda

Senyawa Uji		Hasil
Alkaloid	Mayer	+
	Wagner	+
	Dragendorff	+
Saponin		+
Flavonoid		+
Triterpenoid / Steroid		+
Tanin		+

Keterangan : + = Menunjukkan terdapat senyawa tersebut

– = Menunjukkan tidak terdapat senyawa tersebut

Hasil positif kandungan alkaloid dalam ekstrak etanol daun alamanda ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih saat direaksikan dengan reagen Mayer, endapan coklat kemerahan saat direaksikan dengan reagen Wagner, dan endapan kuning saat direaksikan dengan reagen Dragendorff. Menurut Santi dkk. (2008), prinsip dari metode analisis ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo dalam pereaksi-pereaksi.

Hasil positif kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol daun alamanda ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga pada lapisan amil alkohol. Menurut Ricky (2012), flavonoid dapat diidentifikasi dengan memutus ikatan glikosida melalui reduksi ikatan menggunakan serbuk Mg

dan HCl pekat. Flavonoid yang sudah bebas, kemudian ditarik oleh amil alkohol, sehingga amil alkohol yang mulanya tidak berwarna menjadi berwarna jingga pada akhir reaksi.

Hasil uji triterpenoid atau steroid pada ekstrak etanol daun alamanda, yaitu mula-mula berwarna merah kecoklatan kemudian berubah menjadi hijau kebiruan. Menurut Azizah (2010), indikasi positif steroid ditandai dengan perubahan warna menjadi biru atau hijau, sedangkan pada triterpenoid indikasi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, ungu atau coklat.

Hasil positif kandungan saponin dalam ekstrak etanol daun alamanda ditunjukkan dengan terbentuknya busa stabil. Menurut Santi dkk. (2008), senyawa yang memiliki gugus polar dan non-polar bersifat aktif permukaan, sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus polar menghadap ke luar, sedangkan gugus non-polarnya menghadap ke dalam, keadaan inilah yang tampak seperti busa.

Hasil positif kandungan tanin dalam ekstrak etanol daun alamanda ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Menurut Sa'adah (2010), hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun alamanda dengan FeCl_3 menghasilkan suatu warna hijau kehitaman karena reaksi antara tanin dan FeCl_3 membentuk senyawa kompleks.

D. Morfologi Koloni Jamur Uji

Jamur uji yang digunakan pada penelitian ini, yaitu *Candida albicans* dari Prof. Dr. J. K. Hwang (Korea) dan *Pityrosporum ovale* dari Laboratorium Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Dr. Sardjito. Jamur telah diuji kemurniannya, *C. albicans* di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta dan *P. ovale* di Laboratorium Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Dr. Sardjito.

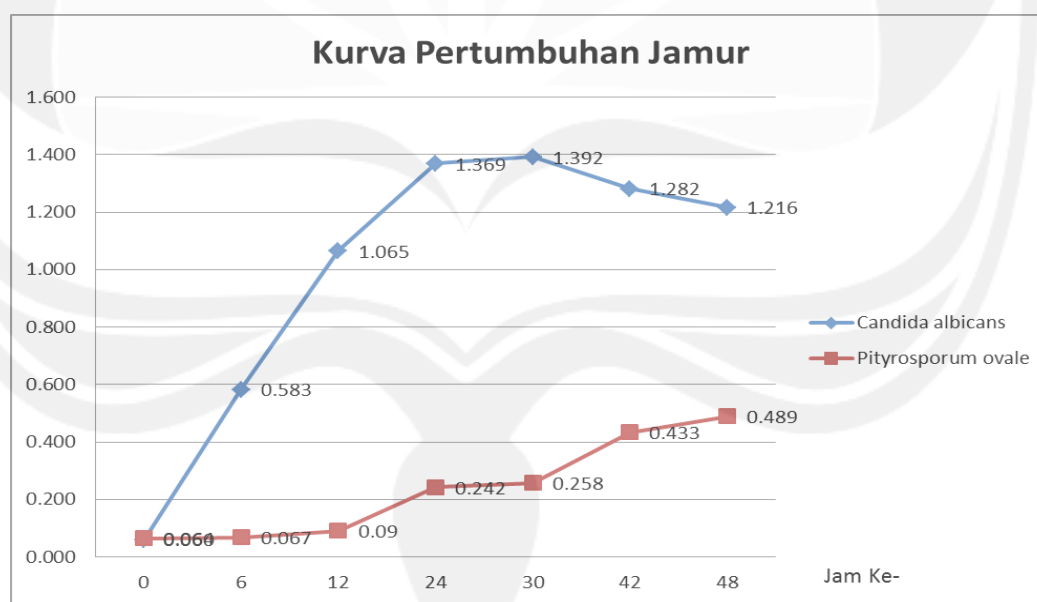
Pengujian morfologi koloni bertujuan untuk lebih meyakinkan lagi kemurnian jamur uji yang dilakukan dengan mengetahui karakteristiknya dalam bentuk koloni. Menurut Cappuccino dan Sherman (2011), parameter morfologi koloni jamur yang mengalami pertumbuhan pada agar petri, antara lain ukuran, warna, bentuk, tepian, dan kenaikan koloni (*elevation*). Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni, kedua jamur uji merupakan jamur yang dimaksud, yaitu *C. albicans* (Dumilah, 1992) dan *P. ovale* (Guillot dkk., 1996).

Tabel 2. Hasil Uji Morfologi Koloni Jamur

Parameter Morfologi Koloni	<i>Candida albicans</i>	<i>Pityrosporum ovale</i>
Bentuk	Bulat	Bulat
Tepian	Rata	Bergelombang
Tekstur Permukaan	Halus dan Mengkilat	Keriput dan Mengkilat
Elevasi	Cembung	Cembung
Warna	Putih	Putih

E. Kurva Pertumbuhan Jamur Uji

Kurva pertumbuhan diperoleh dengan metode turbidimetri, yaitu melihat jumlah mikrobia dengan mengukur densitas optik pada panjang gelombang 600 nm (DO_{600}) (Kosim dan Putra, 2010). Prinsip dasar metode turbidimetri adalah, jika cahaya mengenai sel, maka cahaya dipantulkan dan cahaya yang tidak mengenai sel akan diteruskan. Jumlah cahaya yang diteruskan proporsional (berbanding lurus) dengan transmitan, sedangkan cahaya yang dipantulkan berbanding terbalik dengan transmitan atau berbanding lurus dengan absorbansi (Kosim dan Putra, 2010).

Gambar 1. Kurva waktu vs absorbansi jamur *C. albicans* dan *P. ovale*

Pertumbuhan adalah terjadinya peningkatan jumlah sel yang dihasilkan dari proses pembelahan (Madigan dkk., 2012). Pertumbuhan antara jamur *C. albicans* dan *P. ovale* dalam 48 jam terlihat berbeda pada kurva. *C. albicans* melalui fase lag, akselerasi, eksponensial (log), deselerasi, stasioner, dan kematian, sedangkan *P. ovale* hanya melalui fase lag, akselerasi, dan eksponensial (log).

F. Aktivitas Antijamur Berdasarkan Zona Hambat

Aktivitas antijamur ekstrak etanol daun alamanda dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar secara sumuran karena metode difusi agar merupakan metode umum yang praktis, cepat dalam pembacaan hasil, mudah dan murah (Faatih, 2005). Konsentrasi ekstrak etanol daun alamanda yang digunakan, yaitu 100, 50, 25, dan 12,5% (b/v) (Nurlaila dkk., 2013). Kontrol positif, yaitu ketokonazol dengan konsentrasi 0,1% (b/v). Kontrol negatif, yaitu pelarut ekstrak etanol daun alamanda yang berbentuk pasta kental, yaitu DMSO. Hasil zona hambat yang diperoleh, dianalisis variasi (ANOVA) menggunakan SPSS, dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil analisis variasi menunjukkan adanya bedanyata dan dilanjutkan dengan DMRT.

Tabel 3. Hasil DMRT Luas Zona Hambat (mm^2) Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Alamanda, Kontrol Positif, dan Kontrol Negatif terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*.

Perlakuan (b/v)	Luas Zona Hambat (mm^2)		Rata-rata
	<i>C. albicans</i>	<i>P. ovale</i>	
Kontrol (-)	0 ^a	0 ^a	0 ^A
Ekstrak 12,5%	74,89 ^b	70,96 ^{ab}	72,93 ^B
Ekstrak 25%	152,92 ^c	109,43 ^{bc}	131,17 ^C
Ekstrak 50%	216,03 ^d	168,7750 ^c	192,40 ^D
Ekstrak 100%	298,46 ^e	301,28 ^d	299,87 ^E
Kontrol (+)	248,53 ^{de}	1774,89 ^e	1011,71 ^F

Hasil rata-rata DMRT menunjukkan bahwa kontrol positif memberikan zona penghambatan terbaik dengan luas 1011,71 mm^2 . Namun bila dilihat pada masing-masing jamur uji, hasil akan terlihat berbeda. Pada *P. ovale*, luas zona hambat dari kontrol positif sebesar 1774,89 mm^2 memang paling besar bila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun alamanda konsentrasi 100% (b/v) sebesar 301,28 mm^2 . Namun bila perbandingan hanya dilakukan antarekstrak, konsentrasi ekstrak etanol daun alamanda yang memberikan luas zona hambat terbaik adalah konsentrasi 100% (b/v). Pada *C. albicans*, luas zona hambat dari kontrol positif sebesar 248,53 mm^2 bukanlah yang paling besar bila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun alamanda, tetapi memiliki kemampuan yang hampir setara dengan ekstrak etanol daun alamanda, yaitu konsentrasi 50% (b/v) sebesar 216,03 mm^2 dan 100% (b/v) sebesar 298,46 mm^2 . Pada *C. albicans*, ekstrak etanol daun alamanda dengan konsentrasi 100%

($\frac{b}{v}$) justru yang memberikan luas zona hambat terbaik, bahkan melebihi kontrol positif. Rata-rata luas zona hambat dari kontrol negatif baik pada *C. albicans* maupun *P. ovale* adalah 0 mm², menunjukkan bahwa pelarut DMSO tidak berpengaruh pada luas zona hambat yang diperoleh dari ekstrak etanol daun alamanda.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, aktivitas antijamur ekstrak etanol daun alamanda diduga berhubungan dengan kandungan senyawa fitokimia yang berada di dalam ekstrak tersebut. Senyawa fitokimia yang diduga memiliki kemampuan sebagai antijamur seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid (Vibrianthi, 2011).

Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa (Lutfiyanti dkk., 2012), sehingga kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur karena jamur tumbuh pada pH 3,8 –5,6 (Rahayu dan Rahayu, 2009). Senyawa flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak termasuk golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel (Manitto, 1992). Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur (Parwata dan Dewi, 2008).

Saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, hal tersebut mengakibatkan proses difusi bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2011). Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur (Lutfiyanti dkk., 2012).



Gambar 2. Hasil zona hambat uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun alamanda, kontrol positif, dan kontrol negatif (kiri ke kanan) terhadap *C. albicans*



Gambar 3. Hasil zona hambat uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun alamanda, kontrol positif, dan kontrol negatif (kiri ke kanan) terhadap *P. ovale*

Kemampuan daya hambat atau aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* dan *P. ovale* bila disesuaikan dengan ketentuan Davis (Rahayu dan Rahayu, 2009), maka ekstrak etanol daun alamanda konsentrasi 12,5% ($^{b/v}$) tergolong sedang, konsentrasi 25, 50, dan 100% ($^{b/v}$) tergolong kuat, sedangkan ketokonazol 0,1% ($^{b/v}$) pada *C. albicans* tergolong kuat dan pada *P. ovale* tergolong sangat kuat.

G. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak terhadap Jamur Uji

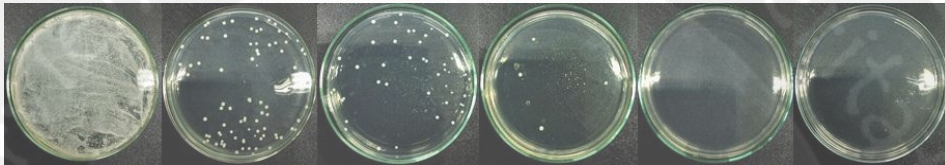
Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah antijamur yang masih mampu menghambat pertumbuhan jamur, sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah antijamur yang sudah mampu mematikan jamur (Dewi, 2009). Penentuan KHM dilakukan dengan metode dilusi tabung kemudian dilanjutkan dengan inokulasi suspensi dari tabung-tabung tersebut pada medium agar untuk penentuan KBM. Konsentrasi yang selanjutnya digunakan sebagai uji KHM dan KBM pada jamur *C. albicans*, yaitu 1, 1,25, 1,50, 1,75, dan 2% ($^{b/v}$), sedangkan pada jamur *P. ovale*, yaitu 5, 6, 7, 8, 9, dan 10% ($^{b/v}$). Pada pengujian ini juga digunakan kontrol jamur uji sebagai pembandingan.

Tabel 4. Hasil DMRT Jumlah Koloni *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale* pada Uji KHM dan KBM

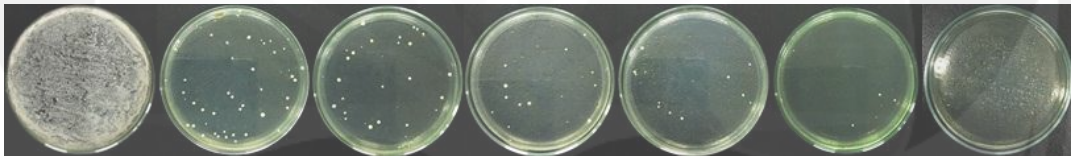
Konsentrasi Ekstrak ($^{b/v}$)	Jumlah Koloni	
	<i>C. albicans</i>	<i>P. ovale</i>
1 %	92 ^c	-
1,25%	46 ^b	-
1,5%	3 ^a	-
1,75%	0 ^a	-
2%	0 ^a	-

5%	-	53 ^e
6%	-	34 ^d
7%	-	17 ^c
8%	-	12 ^c
9%	-	5 ^b
10%	-	0 ^a

Berdasarkan hasil DMRT, diketahui bahwa pada jamur *C. albicans*, KHM pada konsentrasi 1,50% (^b/_v) dan KBM pada konsentrasi 1,75% (^b/_v), sedangkan pada jamur *P. ovale*, KHM pada konsentrasi 9% (^b/_v) dan KBM pada konsentrasi 10% (^b/_v),



Gambar 4. Hasil uji KBM *C. albicans* konsentrasi ekstrak 0 (kontrol jamur), 1, 1,25, 1,50, 1,75, dan 2% (kiri ke kanan)



Gambar 5. Hasil uji KBM *P. ovale* konsentrasi ekstrak 0 (kontrol jamur), 5, 6, 7, 8, 9, dan 10% (kiri ke kanan)

H. Sediaan Krim Tipe Minyak dalam Air (^m/_a)

Pada penelitian ini, dibuat produk sampingan berupa krim ekstrak etanol daun alamanda. Sediaan krim yang dipilih untuk dibuat, yaitu tipe minyak dalam air (^m/_a atau ^o/_w) atau yang disebut juga *vanishing cream*. Pembuatan krim ekstrak etanol daun alamanda dengan tipe ^m/_a, menggunakan resep dari penelitian sebelumnya oleh Rahmawati dkk. (2010). Krim ekstrak etanol daun alamanda dibuat menjadi dua. Krim dengan konsentrasi 1,75% (^b/_v) sesuai hasil uji KBM untuk *C. albicans* dan dengan konsentrasi 10% (^b/_v) sesuai hasil uji KBM untuk *P. ovale*. Hasil sediaan krim dengan konsentrasi 1,75% (^b/_v) berwarna hijau muda dan konsentrasi 10% (^b/_v) berwarna hijau tua, basis krim berwarna putih. Warna yang tampak pada krim dipengaruhi oleh bahan-bahan penyusunnya, seperti banyak sedikitnya ekstrak yang ditambahkan.

I. Kemampuan Krim Melepaskan Zat Aktif

Krim ekstrak etanol daun alamanda yang sudah jadi kemudian diuji pelepasan zat aktifnya untuk mengetahui apakah zat dari ekstrak etanol daun alamanda dapat tetap terlepas atau terdifusi dengan baik ketika sudah dibuat dalam sediaan krim. Pembanding krim ekstrak etanol daun alamanda yang digunakan dalam uji pelepasan zat aktif, yaitu basis krim, krim ketokonazol 2%, dan pasta ekstrak etanol daun alamanda (tanpa dilarutkan dengan DMSO).

Tabel 5. Hasil DMRT Luas Zona Hambat (mm^2) Pelepasan Zat Aktif Krim Ekstrak Etanol Daun Alamanda, Kontrol Positif, Basis Krim, dan Ekstrak Etanol Daun Alamanda terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*

Perlakuan (^b / _b)	Luas Zona Hambat (mm^2)	
	<i>C. albicans</i>	<i>P. ovale</i>
Basis Krim	0 ^a	0 ^a
Krim Ekstrak 1,75%	49,26 ^a	-
Krim Ekstrak 10%	-	83,60 ^a
Ekstrak 100%	402,71 ^b	233,93 ^a
Kontrol (+)	119,71 ^a	1156,31 ^b

Pada jamur *C. albicans*, krim ekstrak etanol daun alamanda dengan konsentrasi 1,75% (^b/_b) memiliki daya hambat 49,26 mm^2 . Pada jamur *P. ovale*, krim ekstrak etanol daun alamanda dengan konsentrasi 10% (^b/_b) memiliki daya hambat 83,60 mm^2 . Hasil tersebut menunjukkan bahwa zat antijamur dari ekstrak etanol daun alamanda yang bercampur di dalam krim tetap dapat terlepas dan berdifusi pada media agar sehingga dapat menghambat pertumbuhan kedua jamur uji.



Gambar 6. Hasil zona hambat uji pelepasan zat aktif kontrol jamur, basis krim, kontrol positif, ekstrak etanol daun alamanda dengan konsentrasi 1,75%, dan ekstrak etanol daun alamanda terhadap *C. albicans*



Gambar 7. Hasil zona hambat uji pelepasan zat aktif kontrol jamur, basis krim, kontrol positif, ekstrak etanol daun alamanda dengan konsentrasi 10%, dan ekstrak etanol daun alamanda terhadap *P. ovale*

Simpulan

1. Ekstrak etanol daun *A. cathartica* L. memiliki kandungan senyawa antijamur yang dapat menghambat pertumbuhan kedua jamur uji, *C. albicans* dan *P. ovale*.
2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun *A. cathartica* L. terhadap *C. albicans* adalah 1,50% ($^{b/v}$), sedangkan terhadap *P. ovale* adalah 9% ($^{b/v}$).
3. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun *A. cathartica* L. terhadap *C. albicans* adalah 1,75% ($^{b/v}$), sedangkan terhadap *P. ovale* adalah 10% ($^{b/v}$).

Saran

1. Pemilihan daun sebaiknya yang seragam, yaitu dengan menentukan umur daun yang akan digunakan, misalnya daun yang sudah dewasa.
2. Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi sebaiknya menggunakan pelarut pro-analisis.
3. Metode turbidimetri dalam pengukuran kurva pertumbuhan dapat diganti dengan metode biomassa, sehingga perbedaan medium pada kedua jamur uji tidak menjadi kendala.
4. Identifikasi kandungan senyawa fitokimia terhadap ekstrak daun alamanda, sebaiknya dilakukan tidak hanya secara kualitatif tetapi juga kuantitatif, misal menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).
5. Produk sampingan yang dibuat dapat dikembangkan menjadi produk lain, misalnya dalam sediaan cair.
6. Penelitian aktivitas ekstrak etanol daun alamanda dapat dikembangkan menjadi antibakteri atau mengganti bagian tanaman yang dibuat menjadi ekstrak yang berpotensi sebagai antimikrobia.

Daftar Pustaka

- Anissa, G. H. 2012. Karakteristik Klinis dan Laboratorium Mikologi pada Pasien Tersangka Mikosis Paru di Rumah Sakit Persahabatan. *Skripsi*. Program Studi Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Arifin, Z. 2006. Kajian Mikoriza Vesikula Arbuskula (MVA) dalam Menekan Perkembangan Penyakit Bercak Ungu (*Alternaria Porri*) pada Bawang Putih. *Disertasi*. Fakultas Ilmu Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Azizah, R. R. 2010. Uji Fitokimia Tumbuhan *Annona squamosa* L. *Laporan Praktikum Kimia Organik II*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjajaran, Bandung.
- Cappuccino, J. G. dan Sherman, N. 2011. *Microbiology a Laboratory Manual 9th edition*. Pearson Benjamin Cummings, Sans Fransisco. Halaman : 23-24.
- Dewi, R. C. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (*Trichosanthes anguina* L.). *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Univesitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Distantitana, Sperisa, Fadilah, Endah, R., Dyartanti, dan Enny K. A. 2007. Pengaruh Rasio Berat Rumput Laut-Pelarut terhadap Ekstraksi Agar-agar. *Jurnal Ekuilibrium* 6 (2) : 53 – 58.
- Dumilah, S. S. 1992. *Candida dan Kandidalis pada Manusia*. FKUI. Jakarta.
- Faatih, M. 2005. Aktivitas Anti-Mikrobia Kokon *Attacus atlas*, L. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* 6 (1) : 35 – 48.
- Guillot, J., Gueho, E., Lesourd, M., Midgley, G., Chevrier, G., dan Dupont, B. 1996. Identification of *Malassezia* species: A practical approach. *J. Mycol Med* 6 : 103 – 110.
- Hezmela, R. 2006. Daya Antijamur Ekstrak Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) dalam Sediaan Salep. *Sripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kosim, M. dan Putra, S. R. 2010. Pengaruh Suhu pada Protease dari *Bacillus subtilis*. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Surabaya, Surabaya.
- Krisyanella, Dachriyanus, dan Marlina. 2012. Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak serta Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri dari Daun Karangmunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (W.Ait) Hassk). *Artikel Program Master*. Universitas Andalas, Padang.
- Lutfiyanti, R., Ma'ruf, W. F., dan Dewi, E. N. 2012. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak *Gelidium latifolium* terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* 1 (1) : 26 – 33.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., dan Parker, J. 2012. *Brock: Biology of Microorganism*. 13th Edition. Pearson Education, Inc., United States of America. Halaman : 3.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. IKIP Press, Semarang.
- Nugroho, B. W., Dadang, dan Prijono, D. 1999. *Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami*. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurlaila, A., Indraswary, R., dan Fatmasari, D. 2013. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jahe Kuning (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* (Kajian secara *In Vitro*). *Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, Semarang.
- Octavia, D. R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (*Anredera corfolia* (Tenore) Steen) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Parwata, I. M. O. A. dan Dewi, P. F. S. 2008. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galaga* L.). *Jurnal Kimia* 2 (2) : 100 – 104.
- Pratiwi, S. I. 2008. Aktivitas Antibakteri Tepung Daun Jarak (*Jatropha curcas* L.) pada Berbagai Bakteri Saluran Pencernaan Ayam Broiler secara *In Vitro*. *Skripsi*. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Rahayu, E. 2012. Aktivitas Gabungan Ekstrak Bakau (*Rhizophora apiculata*), Alamanda (*Allamanda schottii*), dan Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahayu, T. dan Rahayu, T. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffee terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 10 (1) : 10 – 17.
- Rahmawati, D., Sukmawati, A., dan Indrayudha, P. 2010. Formulasi Krim Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Val & Zijp): Uji Fisik dan Daya Antijamur terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*. *J. Majalah Obat Tradisional* 15 (2) : 56 – 63.
- Ramadhan, A. E. dan Phaza, H. A. 2010. Pengaruh Konsentrasi Etanol, Suhu, dan Jumlah Stage pada Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rosc) secara Batch. *Skripsi*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang.
- Ricky, K. 2012. Penapisan (*Screening*) Awal Fitokimia. <http://ricky-kurniawan-20-12-1993.blogspot.com/2012/12/penapisan-screening-awal-fitokimia.html>. Diunduh tanggal 17 September 2014.
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., dan Makang, V. M. A. 2008. Analisis fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *J. Chem. Prog.* 1 (1) : 47 – 53.
- Stecher, P. G. G. 1980. *The Merck Index of Chemical and Drugs*, Ranway. Merck & co, Inc., New Jersey.
- Sugianitri, N. K. 2011. Ekstrak Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) dapat Menghambat Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* secara *In Vitro* pada Resin Akrilik *Heat Cured*. *Tesis*. Program Pascasarjana Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Udayana, Bali.
- Tripathi, K. D. 1999. Antifungal Drugd. In: *Essentials of Medical Pharmacology*. 4th Edition. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD. Halaman: 770 – 780.
- van Steenis, C. G. G. J., Bloembergen, S., dan Eyma, P. J. 1997. *Flora*. Pradnya Paramita, Jakarta. Halaman: 331 – 335.
- van Valkenburg, J. L. C. H. dan Bunyaphrathasara, N. 2002. *Plant Resources of South-East Asia No 12 (2) : Medicinal and Poisonous Plants 2*. Prosea Foundation, Bogor. Halaman : 49 – 51.
- Vibrianthi, C. 2011. Potensi Tanaman Alamanda di Daerah Bogor sebagai Inhibitor Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.